



(12) Wirtschaftspatent

Erteilt gemäß § 17 Absatz 1 Patentgesetz

PATENTSCHRIFT

(19) DD (11) 247 732 A1

4(51) C 07 D 239/54

AMT FÜR ERFINDUNGS- UND PATENTWESEN

In der vom Anmelder eingereichten Fassung veröffentlicht

(21) WP C 07 D / 210 914

(22) 09.02.79

(44) 15.07.87

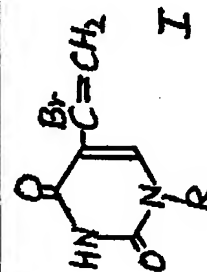
(71) Akademie der Wissenschaften der DDR, Zentralinstitut für Molekularbiologie, 1115 Berlin, DD

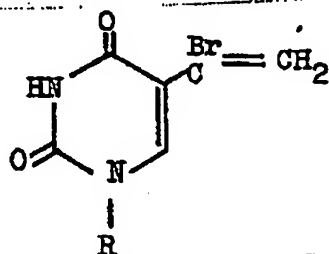
(72) Bärwolff, Dieter, Dr. Dipl.-Chem.; Reesschläger, Jürgen, Dr. Dipl.-Chem., DD

(54) Verfahren zur Herstellung von 1-substituierten 5-(1-Bromvinyl-)uracilen

(57) Die Erfindung ist in der pharmazeutischen Industrie anwendbar. Ihr liegt die Aufgabe zugrunde, ein einfaches und technisch realisierbares Herstellungsverfahren für 1-substituierte 5-(1-Bromvinyl-)uracile der Formel I, in der R einen Zuckerrest wie 2'-Desoxyribose, Ribose, Arabinose und seine Halogen- und Aminoderivate, Alkyl, Alkyläther und Alkylätheralkohole bedeutet, zu entwickeln. Die Verbindungen I werden erfindungsgemäß durch Bromieren und nachfolgendes Dehydrobromieren von 1-substituierten 5-Äthyluracilen hergestellt. Die Dehydrobromierung erfolgt mit reinen tertiären Basen oder mit Alkoholaten in entsprechenden Lösungsmitteln.

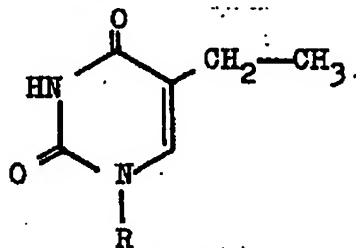
5-(1-Bromvinyl)-2'-desoxyuridin hat eine überraschend hohe antivirale Wirkung. Formel I



Erfindungsanspruch:**1. Verfahren zur Herstellung von 1-substituierten 5-(1-Bromvinyl)-uracilen der Formel I**

(I)

In der R einen Zuckerrast wie 2'-Desoxyribose, Ribose, Arabinose und seine Halogen- und Aminoderivate, Alkylreste, Alkyläther und Alkylätheralkohole bedeutet, dadurch gekennzeichnet, daß Verbindungen der Formel II



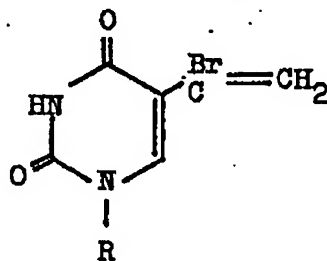
(II)

nach Schutz gegebenenfalls vorhandener OH-Gruppen an R mit Brom in CCl_4 unter radikalischen Bedingungen bromiert und anschließend mit einer Base dehydrobromiert und gegebenenfalls vorhandene Schutzgruppen abgespalten werden.

2. Verfahren nach Punkt 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Dehydrobromierung bei 20–120°C mit reinen tertiären Basen, beispielsweise Diisopropyläthylamin, oder mit Alkoholaten in entsprechenden Lösungsmitteln wie tert. Butanol, DMF, DMSO, Dioxan durchgeführt wird.

Anwendungsgebiet der Erfindung

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung von 1-substituierten 5-(1-Bromvinyl)-uracilen der allgemeinen Formel I,



(I)

in der R einen Zuckerrast, wie 2'-Desoxyribose, Ribose, Arabinose bzw. seine Halogen- oder Aminoderivate, Alkyl, Alkyläther oder Alkylätheralkohol bedeutet.

Die Erfindung ist in der pharmazeutischen Industrie anwendbar.

Charakteristik der bekannten technischen Lösungen

Einige substituierte 5-Vinyluracile sind bereits bekannt. Für 5-(2-Bromvinyl)-2'-desoxyuridin wurde 1978 gefunden (Nucleic Acid Research, Special Publication Nr. 4, 103), daß es einen hohen antiviralen Index hat. Die Synthese dieser Verbindung aus der Nucleobase 5-(2-Bromvinyl)uracil und der 2'-Desoxyribose erfordert 8 Synthese- bzw. Trennstufen (Tetrahedron 32, 2795 [1976]). Sie führt zu einem Isomerenmisch.

Der Einsatz dieser Verbindung als antivirales Mittel ist auf der Basis dieses umständlichen und materialaufwendigen Herstellungsverfahrens nicht in Betracht zu ziehen.

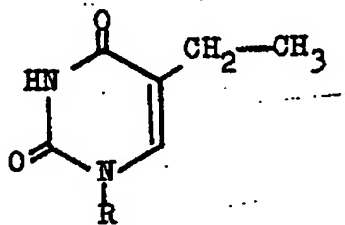
5-(1-Chlorvinyl)-2'-desoxyuridin hat einen sehr niedrigen antiviralen Index und ist damit für einen eventuellen therapeutischen Einsatz nicht geeignet.

Ziel der Erfindung

Die Erfindung hat das Ziel, 1-substituierte 5-(1-Bromvinyl)-uracile herzustellen, wobei das Herstellungsverfahren einfach und technisch realisierbar sein soll.

Darlegung des Wesens der Erfindung

Erfindungsgemäß werden 1-substituierte 5-(1-Bromvinyl)-uracile der Formel I hergestellt, indem Verbindung der Formel II,



in der R die o.g. Bedeutung hat,

nach Schutz gegebenenfalls vorhandener Gruppen an R mit Brom in CCl_4 unter radikalischen Bedingungen bromiert und anschließend mit einer Base dehydrobromiert und gegebenenfalls vorhandene Schutzgruppen abgespalten werden. Die Dehydrobromierung wird erfindungsgemäß bei $20-120^\circ\text{C}$ mit reinen tertiären Basen, beispielsweise Diisopropylbutylamin, oder mit Alkoholaten in entsprechenden Lösungsmitteln wie tert. Butanol, DMF, DMSO, Dioxan durchgeführt. Das erfindungsgemäße Verfahren geht von einfach zugänglichen Ausgangsstoffen aus und führt in 2-3 Stufen zu den Verbindungen I. Im Falle des 5-(1-Bromvinyl)-2'-desoxyuridins wird vom auf bekannte Weise hergestellten 5-Äthyl-2'-desoxyuridin ausgegangen und im 2-Stufen-Eintopfverfahren umgesetzt.

Die erfindungsgemäß hergestellten isomerenreinen Verbindungen I haben einen überraschend hohen antiviralen Index. So zeigt 5-(1-Bromvinyl)-2'-desoxyuridin eine starke Wirkung gegen einige Vertreter aus der Herpes-Virusgruppe (Herpes-simplex-Virus Typ I und Typ II, Zytomegalie-Virus, Varizella-zoster-Virus, Epstein-Barr-Virus, Pseudorabiesvirus) sowie gegen Adenoviren. Sie ist andererseits bei virostatisch wirksamen Konzentrationen gegenüber der Proliferation von Säugerzellen nicht wirksam.

Der therapeutische Index dieser Verbindung (Verhältnis der Substanzkonzentration, die eine 50%ige Hemmung der Zellproliferation bewirkt zu der Konzentration, die eine 50%ige Hemmung der Virusvermehrung bewirkt) beträgt in Abhängigkeit vom verwendeten Zell/Virusystem etwa 1000.

Damit sind gute Möglichkeiten für einen therapeutischen Einsatz gegeben.

Die Erfindung soll nachstehend an einem Ausführungsbeispiel näher erläutert werden.

Ausführungsbeispiel

340 mg 5-Äthyl-(3', 5'-diacetyl)-2'-desoxyuridin (1 mMol) werden in 100 ml CCl_4 gelöst und unter Rückfluß und Lichteinwirkung (Photolampe 250 Watt) mit 350 mg Brom innerhalb von 2 Stunden versetzt. Anschließend wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand in 20 ml Diisopropyläthylamin gelöst. Es wird 1 Stunde unter Rückfluß gekocht, danach werden mit 50 ml ammoniakgesättigtem Methanol die Acetylgruppen abgespalten. Nach Entfernen der Lösungsmittel wird der Rückstand chromatographisch gereinigt.

Ausbeute: 208 mg (= 62 %) 5-(1-Bromvinyl)-2'-desoxyuridin vom Schmelzpunkt $162-163^\circ\text{C}$.

Die Bestimmung der antiviralen Aktivität der hergestellten Verbindungen erfolgt in der Zellkultur (in vitro) im Plaque-Reduktionstest mit Monolayerkulturen einer Affenhirnen-Zelllinie (Vero) bzw. einer Babyhamsterhirnen-Zelllinie (BHK 21/C13), die mit den entsprechenden Viren in der Weise infiziert werden, daß ca. 100 Plaques in der unbehandelten Viruskontrollkultur nach 48-72 h mittels Anfärbung des lebenden Zellrasens durch Neutralrot sichtbar werden. Die Substanzen befinden sich in gelöster Form in der Wachstumsmedium/Methylzelluloseschicht über dem virus-infizierten Zellrasen. Die in den substanzbehandelten virusinfizierten Zellkulturen ermittelten Plaquezahlen werden in Prozent der unbehandelten virusinfizierten Kultur (= 100 %) angegeben und gegen den Logarithmus der Konzentration der Substanz aufgetragen. Aus den erhaltenen Dosis/Wirkungskurven werden die ID_{50} -Werte (Substanzkonzentration in μM , die eine 50%ige Hemmung der Plaqueausbeute bewirkt) entnommen.

In der folgenden Tabelle sind die ID_{50} -Werte sowie die relative antivirale Wirkung am Beispiel von 5-(1-Bromvinyl)-2'-Desoxyuridin sowie für einige bekannte Antih herpes-Standardsubstanzen gegenüber Herpes-simplex-Virus Typ 1 ausgeführt. Die antivirale Wirksamkeit von 5-Jod-2'-Desoxyuridin (IUdR), der z.Z. am meisten in der klinischen Praxis verwendeten antiviralen Substanz wurde mit 1 angenommen.

Tabelle 1

Substanz	$\text{ID}_{50} (\mu\text{M})$	relative Wirkung gegenüber IUdR (= 1)
5'-Aminomethyl-5-Jod-2'-Desoxyuridin (AIU)	500,0	0,0046
5-Jod-2'-Desoxyuridin (IUdR)	2,0	1
Cytosinarabinosid (Ara-C)	0,3	7
5-(1-Bromvinyl)-2'-Desoxyuridin	0,1	20

Tabelle 2 Antivirale Wirksamkeit am Beispiel von 5-(1-Bromvinyl)-2'-Desoxyuridin gegenüber einiger DNS-Viren

Virus	ID ₅₀ (μM)
Herpes-simplex-Virus Typ 1	0,1
Herpes-simplex-Virus Typ 1, Stamm Kupka	0,05
Herpes-Simplex-Virus Typ 2, Stamm US	3,5
Pseudorabies (Herpes) virus, Stamm Buc	0,02
Adenovirus Typ 5	35,0

Die zytostatische Wirksamkeit der hergestellten Verbindungen wird an einer in Suspension wachsenden Babyhamster-Nierenzelllinie (BHK 21/C13/2P) sowie an der in Monolayerkultur wachsenden Affennieren-Zelllinie Vero bestimmt. Die nach 48 Stunden (für BHK 21/C13/2P) sowie nach 96 Stunden (für Vero) in unbehandelten Kontrollkulturen ermittelten Zellzahl wird mit 100% angenommen und die prozentuale Hemmung der Zellzahl in den behandelten Zellkulturen bestimmt, gegen den Logarithmus der Konzentration aufgetragen und aus der auf diese Weise entstandenen Dosis/Wirkungskurven die ID₅₀-Werte (Substanzkonzentration in μM, die eine 50%ige Hemmung der Zellvermehrung bewirkt) entnommen. Diese liegen für 5-(1-Bromvinyl)-2'-Desoxyuridin für beide Zelllinien bei 100 μM, so daß für Herpes-simplex-Virus Typ 1 ein antiviraler Index von 1000-2000 entsteht (Quotient aus ID₅₀ gegenüber Zellen durch ID₅₀ gegenüber Viren). Im Vergleich dazu beträgt der antivirale Index von 5-Jod-2'-Desoxyuridin nur 1.